Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. Maximilian Knorr.

Der Einfluß der Temperatur bei der Einsendung von Wasserproben auf die Keimzahlen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt und verfaßt von

Hans Christian Paul

aus Malente.

1939

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Knorr.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Eine sehr häufige Frage, mit der sich der Hygieniker zu beschäftigen hat, ist die der Untersuchung eingesandter Wasserproben hinsichtlich ihres Keimgehaltes. Dabei spielt es zunächst keine Rolle, ob das Wasser ausschließlich für den Gebrauch als Trinkwasser gedacht ist. Man schickt einfach an das nächste erreichbare Institut mehr oder minder gut verpackte Wasserproben mit der Bitte, die Keimzahl und eventuell die Arten der vorhandenen Keime festzustellen. Man scheint sich dabei oft garnicht vorzustellen, daß mit der Beantwortung solcher Fragen der untersuchende Hygieniker ein hohes Maß von Verantwortung auf sich nimmt; denn er soll ja in den meisten Fällen nicht nur für die Gegenwart, sondern auch für die Zukunft entscheiden, da der Fragesteller nicht nur wissen will, ob das Wasser im Augenblick unschädlich oder schädlich ist, sondern ob es auch in Zukunft unschädlich sein werde.

Gegenwärtig gehen leider Behörden und private Personen noch vielfach so vor, daß sie bei Wohnungsumzügen, bei Grunderwerbungen, Baubewilligungen und Neubauten, bei Konzessionen, bei Gewerbebetrieben usw. einfach die chemisch-bakteriologische Untersuchung von ohne viel Umstände gesammelten Wasserproben anordnen und vornehmen lassen, ohne sich viel um verschiedene, sehr wichtige Einzelheiten zu kümmern, die zu einer genauen Untersuchung und Beurteilung einer solchen eingesandten Wasserprobe einfach unerläßlich sind. Man denke nur einmal daran, auf welch primitive Art und Weise manchmal die sogenannten Wasser„proben" aus Wasserleitungen, Flüssen oder Seen entnommen und versandt werden! Eine Arzneiflasche, vorher einige Male mit Wasser ausgeschwenkt, wird mit dem zu untersuchenden Wasser gefüllt, in einen Pappkarton gepackt und nun ohne nähere Angaben dem nächsten Institut zur Begutachtung übersandt, wo sie dann meist nach 24, manchmal aber auch erst nach 48 Stunden ankommt. Und damit kommen wir zu einem der Hauptfaktoren, die beim Transport einer Wasserprobe meist aus dem Auge gelassen werden:

1. Wie lange dauert es, bis die Wasserprobe von der Untersuchungsstelle auf den Tisch des Hygienikers kommt und

2. Kann sich der Keimgehalt der zu untersuchenden Probe während des Transportes aus irgendwelchen Gründen geändert haben?

Über diese beiden Fragen ist auch in der Literatur bis jetzt sehr wenig erschienen. Harald Huß schreibt im „Hemi och Bergvetvenskap

1920, Heft 11“ über die „Behandlung von Wasserproben vor der bakteriologischen Untersuchung“ folgendes: „Für die große Anzahl der Mikroorganismen, welche bei der bakteriologischen Untersuchung einer Wasserprobe als bezeichnend für ihre Beschaffenheit in Frage kommen, liegt die günstigste Temperatur zwischen 15 und 37°. Man kann diese Mikroben in zwei Gruppen einteilen: Teils solche, die sozusagen in dem betreffenden Wasser zu Hause sind, und sich in ihm vermehren, teils solche, die diesem Nährboden fremd sind, und beim Aufenthalt in Wasser nicht an Zahl zunehmen, außer wenn geeignete Umstände, wie zum Beispiel passende Nahrung und günstige Temperaturen dazukommen. Da aber nur die einzelnen Wasserbakterien sich im Wasser zu vermehren vermögen, so folgt, daß je länger die biologische Umsetzung, d. h. Selbstreinigung des Wassers dauert, desto weniger das Vorkommen der wasserfremden Mikroben bei der Wasseruntersuchung bemerkbar ist. Bei niedriger Temperatur schreiten die genannten Veränderungen in der Lebewelt des Wassers sehr langsam fort. Zeit und Temperatur zwischen Probeentnahme und Untersuchung sind also 2 Faktoren, die einen großen Einfluß auf das Ergebnis einer Wasseruntersuchung ausüben können. Bei welcher Temperatur soll, und wie lange kann eine Wasserprobe aufbewahrt werden, ohne daß ihre Beschaffenheit in bakteriologischer Hinsicht sich ändert?“ Es folgen nun die Untersuchungen, auf Grund dererHuß zu folgenden Schlüssen kommt: „Nach 1tägigem Verwahren bei 20—22 Grad starke Zunahme des Mikrobengehaltes. Dagegen wird die ursprüngliche Keimzahl bei Aufbewahren zwischen 3—5 Grad länger beibehalten.“ Huß schließt mit folgenden Resultaten „Wenn die Zeit zwischen Probeentnahme und Untersuchung 4 Std. überschreitet, muß das Wasser abgekühlt gehalten werden. Eine Wasserprobe kann sich während des Transports unverändert halten, wenn die Temperatur des Wassers die ganze Zeit über bei höchstens 9 Grad gehalten wird, und die Zeit für den Transport 48 Std. nicht überschreitet. Hält man die Temperatur zwischen 3 und 5 Grad, so kann der Transport ohne störende Veränderung der Bakterienflora 3 Std. dauern.“

Daß die Dauer eines Transportes und Veränderungen in der Temperatur große Bedeutung für eine Begutachtung einer Wasserprobe haben, erkennen auch amtliche Erlasse an, wenn sie, wie das Bayerische Staatsministerium des Innern in seiner Bekanntmachung vom 21. 4. 14 über die Arbeitsordnung bei der Bakter. Untersuchungsanstalt“ wie folgt verfügt: „Die Stunde der Probeentnahme ist mit Rücksicht auf die Bahn- oder Postverbindung so zu wählen, daß zwischen der Entnahme der Probe und ihrer Ankunft in der Anstalt möglichst wenig Zeit, keineswegs mehr als 24 Std. vergehen. Das Gefäß, in dem die Probe verwahrt wird, soll mit klein gehacktem Eis gekühlt sein.“

Außer einer Arbeit aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg, die sich teilweise auch mit diesen Fragen auseinandersetzte, konnten weitere Veröffentlichungen nicht ermittelt werden.

Zweck meiner Arbeit sollte es nun sein, diese bisher gewonnenen Ergebnisse und Behauptungen zu überprüfen und unter Umständen zu ergänzen. Es handelte sich also darum, festzustellen,

1. ob ein längerer Transport und Temperaturschwankungen während des Transportes den Keimgehalt einer Wasserprobe beeinflussen können,
2. auf welche Weise man über eine größere Zeitspanne hinweg den ursprünglichen Keimgehalt wenigstens einigermaßen erhalten kann, sodaß die Beurteilung einer Wasserprobe noch gerechtfertigt erscheint.

Das von mir zu diesen Untersuchungen verwendete Wasser stammte zum größten Teil aus dem Main, zum kleineren Teil aus den von auswärts her in den Main fließenden kleinen Bächen Kürnach und Pleichach. Die hin und wieder eingeschalteten Versuche mit Würzburger Leitungswasser erwiesen sich als für die Untersuchungen ungeeignet, da der Keimgehalt des Leitungswassers zu gering war, um aus seinen Schwankungen irgendwelche Schlüsse ziehen zu können.

Die Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von ungefähr einem halben Jahr; es wurde mit den ersten Versuchen im Mai begonnen, zu einer Zeit also, in der eine ziemlich konstant warme Witterung herrschte; sie wurden fortgesetzt im Hochsommer als die Wassertemperaturen sich durchschnittlich um 20—23 Grad bewegten und zum Abschlusse gebracht im Herbst bei Wassertemperaturen von rund 10—12 Grad.

Ich wählte absichtlich diesen Zeitraum, um gleichzeitig dabei mit festzustellen, ob vielleicht die Jahreszeit mit ihren immerhin beträchtlichen Temperaturschwankungen einen Einfluß auf die Bakterienflora ausübt, der sich unter Umständen bei eingesandten Wasserproben in der Keimzahl auswirken könnte. Aus denselben Erwägungen heraus wurden Wasserproben nicht nur bei warmer oder trockener Witterung sondern auch nach stärkeren Regenperioden entnommen. Doch haben sich hinsichtlich der Gesamtbeurteilung des Keimgehaltes bezw. der Keimveränderung keine wesentlichen Unterschiede ergeben.

Versuchsanordnung:

Die Versuchsanordnung war folgende: Das zu untersuchende Wasser wurde mittels steriler Buchnerröhre möglichst so entnommen, daß man von einer „sterilen Wasserentnahme“ sprechen konnte. Zu diesem Zweck wurden die Gefäße vor und nach der Füllung abgeflammt und mittels eines ebenfalls abgeflammten Zellstoffstopfens verschlossen. Das auf diese Weise entnommene Wasser wurde auf dem schnellsten Wege in das Institut gebracht und dort mit der weiteren Verarbeitung begonnen. Ich verzichte dabei bewußt auf einen Transport in einem

eisgekühlten Gefäß, da sich herausgestellt hatte, daß die ursprüngliche Temperatur des zu untersuchenden Wassers sich konstanter hielt, als wenn es erst auf Eis gelagert wurde, da hierbei trotz der kurzen Entfernung zum Institut immerhin eine Temperaturabnahme von 4—5 Grad festzustellen war. Der Zeitunterschied zwischen der Entnahme und der erstmaligen Verarbeitung betrug 15—20 Minuten, sodaß man also in dieser Hinsicht auch noch berechtigt ist, von einer sofortigen Verimpfung zu sprechen.

Im Institut wurde nun von dieser Wasserprobe eine Verdünnung von 1 : 100 hergestellt und zwar verwendete ich als Verdünnungsflüssigkeit steriles aqua dest. Zu dieser Maßnahme sah ich mich genötigt, weil die Keimzahlen im Mainwasser schon bei der sofortigen Verarbeitung derart hoch waren, daß ich annehmen mußte, daß bei längerem Aufbewahren ein genaues Zählen überhaupt nicht mehr möglich sein würde. Natürlich mußte bei dieser Verdünnung streng darauf geachtet werden, daß sich hierbei die Temperaturen nicht veränderten. Es mußte also dafür gesorgt werden, daß die Temperatur des zu verdünnenden Wassers (in unserem Falle also Mainwasser) dieselbe war, wie die des zur Verdünnung verwendeten Wassers (in unserem Falle also aqua dest. steril). Mit Hilfe von Wasserbädern, in die je nach Bedarf unter Umständen noch Eisbrocken getan wurden, gelang es immerhin, die Temperaturunterschiede auf 1—1,5 Grad zu drücken.

Nun wurden in 4 sterile Petrischalen je 1 ccm dieses verdünnten Wassers gebracht und davon je 2 mit Gelatine und 2 mit Agar ausgegossen. Ich beschränkte mich dabei absichtlich nicht auf einen der beiden Nährböden, da erfahrungsgemäß durchaus nicht alle lebenden Keime, die in einer Wasserprobe vorhanden sind, auf Gelatine wachsen, während umgekehrt auch nicht alle Keime auf Agar gedeihen. Außerdem war bei den Gelatineplatten immer mit der unliebsamen Überraschung der Verflüssigung zu rechnen, durch die eine Auswertung des Versuchs leicht getrübt, wenn nicht sogar zu einem Fehlversuch herabgedrückt werden konnte. Daß ich von je einem Nährboden 2 Platten anlegte, hatte seinen Grund darin, daß ich einen möglichst genauen Durchschnittswert bekommen wollte.

Der Rest des zu untersuchenden Wassers wurde dann auf drei gewöhnliche Saftflaschen verteilt, von denen die erste im Eisschrank bei 4 Grad, die zweite im Brutschrank bei 22 Grad und die dritte im Brutschrank bei 37 Grad aufbewahrt wurde. Hier blieben die Flaschen nun, bis neue Platten gegossen wurden. Um nun einen möglichst genauen Überblick zu erhalten, bei welchen Temperaturen und nach welcher Zeit eine Zu- bzw. Abnahme der Keimzahl eintrat, entschloß ich mich, nach 4, 8, 12, 24 und 48 Stunden weitere Platten zu gießen.

Während die Gelatineplatten 4 Tage im 22-Grad-Brutschrank blieben und alle 24 Stunden gezählt wurden, verblieben die Agarplatten nur 3 Tage im 37-Grad-Schrank und wurden dann nochmals 24 Stun-

den in den 22 Grad-Schrank gebracht, um auch die Keime zum Wachstum zu veranlassen, die eventuell bei 37 Grad eine Wachstumshemmung erfahren hatten. Doch hat sich bei sämtlichen Versuchen dabei ergeben, daß eine wesentliche Erhöhung der Keimzahl dabei nicht festzustellen war.

Im Einzelnen ergaben sich bei den ersten sieben Versuchen nun folgende Ergebnisse:

Versuch 1.

Der ursprüngliche Keimgehalt der bei klarem Wetter und einer Wassertemperatur von *15,1 Grad* um 8 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe betrug insgesamt (Gelatine und Agar zusammen!) 20 300 Keime auf 1 ccm. Demgegenüber verhielten sich die Keimzahlen der bei 4, 22 und 37 Grad aufbewahrten und nach 4, 8, 12, 24 und nach 48 Std. verimpften Wasserproben folgendermaßen:

1. Bei der im Eisschrank bei 4 Grad aufbewahrten Wasserprobe war nach 4 Std. keine wesentliche Veränderung der Keimzahl feststellbar (22050). Jedoch trat bei der nach 8 Std. vorgenommenen Verimpfung schon eine Abnahme (16000) ein. Diese Keimzahlverringerung wurde noch deutlicher bei den nach 12, 24 und 48 Std. vorgenommenen Verimpfungen, wo die Werte auf 14 200 bzw. 4 700 bzw. 1 200 absanken.

2. Die bei *22 Grad* aufbewahrte Wasserprobe wies nach 4 Std. eine Erhöhung der Keimzahl auf (37 400). Nach 8std. Aufbewahrung dagegen erfolgte ein Absinken auf 30 950, dem sich nach 12 Std. ein Anstieg auf 57 500 anschloß. Dagegen sank die Keimzahl bei der nach 24 Std. erfolgten Verimpfung wieder ab auf 37 300, um nach 48 Std. auf über 34 292 300 anzusteigen!

3. Bei der im 37-Gradschrank aufbewahrten Probe war nach 4 Std. keine Änderung gegenüber der Ausgangszahl feststellbar (22 850). Nach 8 Std. bemerkte man eine Zunahme auf 28 300. Nach 12 Std. Aufbewahrungszeit war die Keimzahl auf 166 550 gestiegen, um nach 24 Std. bereits „unzählbar" zu werden.

Versuch 1 am 13. 5. 1938.

1 ccm Mainwasser in 99 ccm Aqua dest. steril.

Wetter: klar, sonnig; Temp.: *15,1* Grad; Zeit: 8 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	18 500	1 800	100%						
n. 4 Std.	21 000	1 050	108%	35 800	1 600	180%	21 200	1 650	112%
n. 8 Std.	15 000	1 000	78%	28 900	2 050	152%	19 900	8 400	138%
n. 12 Std.	12 800	1 400	69%	50 700	6 800	283%	145 700	278 850	—
n. 24 Std.	4 300	400	23%	36 700	600	183%	unzählbar		—
n. 48 Std.	850	350	5%	34 292	300	—	unzählbar		—

Versuch 2.

Bei der bei regnerischem Wetter und einer Wassertemperatur von 15,1 Grad um 10 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe betrug der ursprüngliche Keimgehalt 15 400 Keime auf 1 ccm.

1. Nachdem das Wasser 4 Std. im Eisschrank bei 4 Grad aufbewahrt worden war, zeigte sich eine Abnahme der Keimzahl auf 11 600. Nach 8std. Aufbewahrung trat nun wiederum eine geringe Zunahme der Keime auf 13 850 auf. Nach 12std. Aufbewahrung trat nun eine Abnahme der Keime auf 9 000 ein, nach 24 Std. weitere Abnahme auf 8 650 und nach 48 Std. nochmalige Abnahme auf 4 600 Keime pro 1 ccm.

2. Das im 22-Gradschrank aufbewahrte Wasser wies dagegen sowohl bei der nach 4 Std., als auch bei den nach 8, 12 und 24 Std. erfolgten Verimpfungen keinen Keimzuwachs auf: (15 650; 15 500; 17 100). Nach 48 Std. Aufbewahrung dagegen waren die Keime überhaupt nicht mehr zählbar.

3. Bei der bei 37 Grad aufbewahrten Wasserprobe erfolgte zwar bei der nach 4 Std. vorgenommenen Verimpfung keine Keimveränderung (14 100), doch stieg sie bereits nach 48 Std. Aufbewahrung auf 40 950 an. Nach 12 Std. wies das Wasser bereits 282 750 Keime auf, während nach 24 Std. die Keime überhaupt nicht mehr gezählt werden konnten.

Versuch 2 am 18. 5. 38.
1 ccm Mainwasser in 99 ccm Aqua dest. steril.
Wetter: trübe, Regenfälle. Temp.: *15,1* Grad. Zeit: 10 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	12 100	3 300	100%						
n. 4 Std.	9 400	2 400	76%	11 650	3 000	95%	11 050	3 550	93%
n. 8 Std.	11 650	2 200	89%	12 700	2 500	105%	32 550	8 400	265%
n. 12 Std.	5 450	2 650	52%	13 800	3 300	111%	175 000	167 750	—
n. 24 Std.	5 350	3 300	56%	187 000	673 300	—	unzählbar		—
n. 48 Std.	3 650	950	29%	unzählbar		—	unzählbar		—

Versuch 3.

Die Wasesrprobe wurde bei regnerischem Wetter und einer Wassertemperatur von *19 Grad* in der Frühe um 11 Uhr entnommen. Die Ursprungskeimzahl betrug 10 300 auf 1 ccm.

1. Bereits nach 4 bezw. 8 bezw. 12stündigem Verweilen bei 4 Grad erfolgte ein Absinken des Keimgehaltes auf 6 400 bezw. 6 250 bezw. 6 900; nach 24- bezw. 48stündiger Aufbewahrung fiel sie weiter ab auf 3 400 bezw. 1 850.

2) Während bei den Versuchen 1 und 2 in dem bei 22 Grad aufbewahrten Wasser eine deutliche Keimzahlerhöhung feststellbar war, trat in diesem Versuch merkwürdigerweise gerade das Gegenteil —

eine Keimzahlerniedrigung — ein. Und zwar sank der Keimgehalt des Wassers nach 4stündiger Aufbewahrung auf 7 300, dann weiter nach 8stündiger Aufbewahrung bereits auf 3 950 ab. Bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung stieg die Keimzahl wieder um etwas an auf 8 000, um dann nach 24 bezw. 48 Std. auf 2 400 bezw. 700 abzusinken.

3. Dagegen zeigte das bei 37 Grad aufbewahrte Wasser auch in diesem Versuch ähnliche Ergebnisse wie bei den ersten beiden Versuchen. Zwar war auch hier nach 4 Std. zunächst eine Abnahme des Keimgehaltes auf 6 090 feststellbar, doch bot sich beiden nach 8, 12, 24, 48 Std. erfolgten Verimpfungen wiederum das übliche Bild der Keimzahlzunahme (12 050; 61 000; 61 500; und 161 152 400).

Versuch 3 am 30. 5. 38.
1 ccm Mainwasser in 99 ccm aqua dest. steril.
Wetter: trüb, Regenfälle. Temp.: *19 Grad*. Zeit: 11 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	6 600	3 700	100%						
n. 4 Std.	5 400	1 000	62%	6 150	1 150	70%	5 350	740	59%
n. 8 Std.	5 100	1 150	60%	2 900	1 050	38%	9 800	2 250	117%
n. 12 Std.	5 150	1 750	67%	5 000	3 000	77%	29 800	31 200	421%
n. 24 Std.	2 250	1 150	33%	1 900	500	23%	29 650	31 850	592%
n. 48 Std.	1 150	700	18%	400	300	6%	107 816 300	53 337 100	

Versuch 4.

Bei diesem Versuch wurde zum 1. Male kein Mainwasser verwandt, sondern gewöhnliches Leitungswasser. Es wurde unter den gewöhnlichen Vorsichtsmaßregeln (20 Minuten laufen lassen, Wasserhahn abflammen!) entnommen und dann weiter wie die vorhergehenden Proben behandelt. Nur wurde in diesem Falle wegen des geringen Keimgehaltes des Würzburger Leitungswassers auf eine Verdünnung mit aqua dest. verzichtet.

Es zeigte sich bei einem Ausgangskeimgehalt von 6 Keimen weder bei Eiskühlung noch bei 22 Grad und selbst nicht bei 37 Grad bei Aufbewahrung bis zu 48 Std. eine wesentliche Änderung.

Versuch 5.

Da der Versuch 4 ergeben hatte, daß die Keimzahlen des Würzburger Leitungswassers zu gering waren, um aus ihrer Veränderung irgendwelche Schlüsse zu ziehen, verwendeten wir zum 5. Versuch wieder Mainwasser.

Bei der bei strömendem Regen und einer Wassertemperatur von 18 Grad um 9 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe fanden sich in 1 ccm 9 300 Keime.

1. Nach 4stündiger Aufbewahrung im Eisschrank konnten wir jedoch bereits eine Abnahme auf 6 000 Keime feststellen. Nach 8 Std. hatten sie sich bereits auf 5 750 vermindert, nach 12 Std. weiterhin auf 4 750. Nach 24 Std. waren nur noch 3 255 Keime im ccm feststellbar und nach 48 Std. im Ganzen nur noch 2 000.

2) Dagegen sahen wir eine Erhöhung der Keimzahlen bei der im 22-Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe. Sie betrug bei der nach 4 Std. erfolgten Verimpfung 11 450 und nach 8 Std. bereits 38 000 Keime auf 1 ccm. Sie stieg weiter nach 12 Std. auf 115 300, nach 24 Std. auf 3 147 050 und konnte nach 48stündiger Aufbewahrung überhaupt nicht mehr gezählt werden.

3. Ebenso trat eine Erhöhung der Keimzahl bei der im 37-Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe ein. Sie betrug nach 4 Std. 13 500, nach 8 Std. bereits 55 000, nach 12 Std. 543 500. Nach 24stündiger Aufbewahrung konnten nur noch die auf Gelatine gewachsenen Keime gezählt werden, nach 48 Std. waren dagegen sowohl die auf Gelatine als auch die auf Agar gewachsenen Keime unzählbar.

Versuch 5 am 11. 6. 38.
1 ccm Mainwasser in 99 ccm aqua dest. steril.
Wetter: trübe, Regenfälle. Temp.: *18 Grad.* Zeit: 9 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	5 300	4 000	100%						
n. 4. Std.	2 350	3 650	66%	6 250	5 200	127	6 400	7 100	150
n. 8. Std.	2 650	3 100	64%	28 850	11 150	422	32 300	22 700	611
n. 12 Std.	2 950	1 800	52%	78 500	36 800	—	282 450	261 050	—
n. 24 Std.	2 050	1 205	36%	1891 100	1 255 950	—	unzählb.		—
n. 48 Std.	1 050	950	22%	unzählb.	13 834 800	—	unzählb.		—

Versuch 6.

Die Versuche 6 und 7 wiesen überraschend ähnliche Ergebnisse auf. Wir konnten uns das nur so erklären, daß obwohl die Wasserproben an 2 verschiedenen Tagen entnommen wurden, doch beide um dieselbe Tageszeit und bei fast der selben Wassertemperatur entnommen wurden.

Die bei sonnigem, heißem Wetter um 11^{45} Uhr entnommene Wasserprobe wies eine Temperatur von 23 Grad auf, ihr Keimgehalt wurde mit 18 500 bestimmt.

Bei 4 Grad Aufbewahrungstemperatur war der Keimgehalt nach 4 Std. bereits auf 12 500 gesunken. Er sank weiter nach 8 Std. auf 2 800, stieg nach 12 Std. etwas an auf 4 850, um nach 24 bezw. 48 Std. auf 2 800 bew. 800 zu sinken.

2. Bei Aufbewahrung im 22-Grad-Schrank war nach 4 Std. der Keimgehalt 20 900, nach 8stündiger Aufbewahrung war er jedoch

etwas abgesunken auf 15 850. Bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung war jedoch bereits wieder eine Keimzahlerhöhung auf 31 400 festzustellen. Sie erhöhte sich nach 24 Std. auf 1 523 400 und war nach 48 Std. auf 31 856 600 gestiegen.

3. Während bei allen vorausgegangenen Versuchen eine Erhöhung des Keimgehaltes bei der im 37-Grad-Schrank aufbewahrten Probe festgestellt wurde, war dieses bei den Versuchen 6 und 7 merkwürdigerweise nicht der Fall. Hier zeigte sich nämlich bereits nach 4 Std. eine Keimzahlermäßigung auf 3 700. Sie sank nach 8stündiger Aufbewahrungszeit sogar auf 1 550 ab. Nach 12 Std. stieg sie wieder etwas an auf 3 000, um nach 24 Std. auf 29 100 zu steigen. Bei der nach 48 Std. erfolgten Verimpfung waren die Keime wieder unzählbar.

Versuch 6 am 15. 6. 38.
1 ccm Mainwasser in 99 ccm aqua dest. steril.
Wetter: sonnig, heiß; Temp.: *23 Grad*; Zeit: 11^{45} Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	16 100	2 400	100%						
n. 4 Std.	10 350	2 150	67%	18 000	2 900	112%	2 650	1 050	20%
n. 8 Std.	2 250	550	15%	13 500	2 350	85%	1 150	400	8%
n. 12 Stdt.	4 250	600	26%	27 250	4 150	164%	2 500	500	16%
n. 24 Std.	2 200	600	15%	795 000	528 400	—	10 150	18 950	157%
n. 48 Std.	verfl.	800	4%	verfl.	31 856 600	—	verfl.	unzählb.	—

Versuch 7.

Ähnliche Ergebnisse wie bei Versuch 6 stellten wir auch bei Versuch 7 fest.

Auch hier war die Wasserentnahme bei sonnigem, heißem Wetter und einer Wassertemperatur von 22 Grad erfolgt. Die Ursprungskeimzahl betrug 15 350 auf 1 ccm.

1. Die bei 4 Grad aufbewahrte Wasserprobe zeigte nach 4 Std. bereits eine Keimabnahme auf 9 450. Der Keimgehalt sank weiter nach 8 Std. auf 2 250, stieg dann nach 12 Std. Aufbewahrungszeit etwas an auf 2 850, um nach 24 Std. auf 1 700 und nach 48 Std. auf 650 abzusinken.

2. Bei der im 22-Grad-Schrank aufbewahrten Probe war auch in diesem Versuch bereits ein geringes Anwachsen der Keimzahl nach 4 Std. zu bemerken (18 450). Auch hier sank sie jedoch, wie im Versuch 6 nach 8 Std. wieder etwas ab auf 12 000. Nach 12 Std. stieg sie jedoch bereits wieder auf 29 150, nach 24 Std. auf 1 130 700 und nach 48 Std. auf 31 303 100.

3. Die im 37 Grad-Schrank aufbewahrte Wasserprobe wies gegenüber der Ursprungszahl folgende Veränderungen auf: Nach 4stündiger

Aufbewahrungszeit waren nur noch 2 950 Keime in 1 ccm feststellbar. Nach 8 Std. konnten nur noch 1 400 Keime gezählt werden. Nach 12stündiger Aufbewahrung zeigte sich wiederum eine geringe Zunahme auf 2 600. Dagegen bemerkte man bei der nach 24 Std. erfolgten Verimpfung eine sehr starke Zunahme des Keimgehaltes auf 24 800. Genau wie im Versuch 6 war auch in diesem Versuch der Keimgehalt der nach 48 Std. erfolgten Verimpfung nicht zu zählen.

Versuch 7 am 21. 6. 38.

1 ccm Mainwasser in 99 ccm aqua dest. steril.

Wett: sonnig, heiß; Temp.: *22 Grad;* Zeit: 10 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	13 700	1 850	100%						
n. 4 Std.	7 950	1 500	60%	16 000	2 450	118%	2 100	800	18%
n. 8 Std.	1 800	450	14%	11 150	1 850	83%	900	500	9%
n. 12 Std.	2 300	550	*18%*	26 300	2 850	*187%*	2 050	550	16%
n. 24 Std.	1 250	450	10%	653 050	477 650	—	8 750	16 050	158%
n. 48 Std.	200	450	4%	verfl.	31 303 100	—	verfl.	unzähl.	—

Auf Grund der bisher aus den Versuchen (7) gewonnenen Ergebnisse konnten wir folgende Tatsachen im Großen und Ganzen feststellen:

Wurde Wasser bei einer Temperatur von 4 Grad aufbewahrt, so trat eine Keimzahlverminderung, wahrscheinlich bedingt durch eine Keimschädigung, wenn nicht sogar durch einen Keimtod, ein. Diese Keimschädigung trat umso deutlicher zu Tage, je länger das Wasser dieser Temperatur ausgesetzt war. Demgegenüber trat bei dem bei 22 Grad aufbewahrten Wasser eine deutliche Keimvermehrung ein, die besonders augenscheinlich wurde bei der im 37-Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe.

Aus diesen Tatsachen konnte ich den Schluß ziehen:

Der Keimgehalt des Wassers ändert sich, sobald sich auch die Temperatur des Wassers ändert. Oder umgekehrt: Der Keimgehalt einer Wasserprobe müßte eigentlich längere Zeit hindurch derselbe bleiben, wenn es mir gelingen würde, auch die Ursprungstemperatur beizubehalten.

Es handelte sich also jetzt darum, festzustellen, wie lange der Keimgehalt einer Wasserprobe als praktisch unverändert angenommen werden kann, wenn es mir gelingt, die bei der Entnahme herrschende Temperatur beizubehalten.

Zu diesem Zwecke erschienen uns die doppelwandigen „Dewar-Isoliergefäße“ (Inhalt 250 ccm, Verschluß durch Gummistopfen)

als die geeignetsten Aufbewahrungsmittel. Doch bevor wir an die Versuche selber gingen, lag uns daran festzustellen, unter welchen Umständen diese Gefäße die Ausgangstemperatur am besten beibehalten würden. Zu diesem Zweck bedienten wir uns folgenden Vorversuchs:

Vorversuch.

4 Isolierflaschen I, II, III und IV wurden mit Wasser von einer bestimmten Temperatur gefällt, mit Gummistopfen verschlossen, und dann verschiedenen Außentemperaturen auf die Dauer von 48 Std. ausgesetzt. Und zwar das Gefäß I einfach bei Zimmertemperatur aufbewahrt, Gefäß II wurde in den Eisschrank (4 Grad) gestellt. Die Gefäße III und IV wurden in Holzkisten verpackt, wobei zur Ausfüllung des Zwischenraumes zwischen Gefäßwand und Holzkiste in einem Falle Papier (III) im anderen Falle Zellstoff verwendet wurde (IV). Dann wurde nach 4, 8, 12, 24, 48 Std. die jeweilige Temperatur im Gefäß festgestellt. Dabei ergab sich nun folgendes:

Wenn ich das Dewar-Gefäß einfach unverpackt in ein Zimmer stelle, in dem es ohne Isoliermantel den Temperaturschwankungen des Raumes ausgesetzt ist, so gleicht es sich im Verlaufe verhältnismäßig kurzer Zeit diesen Temperaturschwankungen an. Stieg die Zimmertemperatur, so stieg ebenfalls auch, allerdings nicht mit derselben Beschleunigung, die Gefäßtemperatur. Sank sie, so sank auch die Temperatur des Wassers im Dewar-Gefäß. Genau so verhielt sich auch die Temperatur des im Eisschrank aufbewahrten Gefäßes, wo im Verlaufe der Aufbewahrung zwar eine langsame, aber doch immerhin stetige Abnahme der Ursprungstemperaturen festzustellen war.

Am konstantesten hielten sich die Temperaturen der in den Holzkisten verpackten Gefäße, wobei sich herausstellte, daß die Art des „Isoliermaterials" keinen Einfluß auf die Temperaturschwankungen ausübte. Die Hauptsache war, daß der Zwischenraum zwischen Gefäßwand und Kistenwand durch einen schlechten Wärmeleiter ausgefüllt war.

Vorversuch.

	Gefäß I		Gefäß II		Gefäß III	Gefäß IV
	Zimmer:	Anfangst.	Eisschr.:	Anfgst.	Anfgst.	Anfangst.
sofort	23°	19,5°	4°	19,5°	22°	22°
n. 4 Stunden	24°	20,5°	4°	15°	22°	22°
n. 8 Stunden	24°	21,5°	4°	10,8°	22,5°	22,5°
n. 12 Stunden	25°	22,0°	4°	9,8°	23°	23°
n. 24 Stunden	23°	20°	4°	8,5°	24°	24°
n. 48 Stunden	20°	18°	4°	5°	23°	23°

Aus obiger Tabelle ersehen wir nun, daß für begrenzte Zeiten und bei Verhältnissen wie sie normalerweise vorkommen, keine allzu starken Temperaturveränderungen zu befürchten sind.

Eine gewisse Schwierigkeit bot nun allerdings die Entnahme der Wasserprobe, da sie doch unter Ausschaltung jeder äußeren Verunreinigung vor sich gehen mußte. Zu diesem Zweck wurden die Flaschen zunächst mit Zellstoff verschlossen und mit Filtrierpapier umwickelt, 30 Minuten lang bei 180° im Heißluftschrank sterilisiert. Von ihnen getrennt wurde der Gummistöpsel, der mit Ölpapier umwickelt wurde, im Dampf ($120^0 = 1$ atü) sterilisiert. Nach Füllung der Gefäße mit der betreffenden Wasserprobe wurde dann die Hülle von den Stopfen entfernt und die Flaschen zugestöpselt. Dadurch erübrigte sich ein Abflammen der empfindlichen Gefäße und Gummistöpsel.

Auf diese Weise wurden nun die mit „D" bezeichneten Versuche in der Folge durchgeführt.

Versuch D 1.

Die erste Wasserprobe wurde bei sonnigem, heißem Wetter und einer Wassertemperatur von 23 Grad um 11^{45} Uhr entnommen. Als Isolierschicht zwischen Gefäßwand und Kistenwand wurde gewöhnliches Zeitungspapier verwendet. Die Ausgangskeimzahl betrug (wieder Gelatine und Agar zusammen)

insgesamt 15 350 Keime auf 1 ccm Wasser.

Nach 4stündiger Aufbewahrung hatte sich die Temperatur des Wassers noch nicht geändert, die Keimzahl war dagegen etwas abgefallen auf 13 750. Nach 8 Std. Aufbewahrungszeit hatte sich die Gefäßtemperatur nur um ½ Grad gegenüber der ursprünglichen verändert, die Keimzahl war auf 20 750 gestiegen. Trotzdem sich die Temperatur auch nach 12stündiger Aufbewahrung nicht geändert hatte, stieg jetzt der Keimgehalt plötzlich sehr stark an auf 1 007 250. Nach 24 Std., wo die Temperatur 24 Grad betrug, konnten die Keime nicht mehr einzeln gezählt werden, ebensowenig wie nach 48 Std., wo die Temperatur des Wassers auf 22 Grad abgesunken war.

Tabelle zu D 1.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. steril.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	23°	23°	23°	23,5°	24°	22°
Gelatine:	12 100	11 200	13 300	896 050	unzählbar	verflüss.
Agar:	3 250	2 550	7 450	111 200	11 512 850	unzählb.
Prozent:	100%	89%	134%	—	—	—

Isolierschicht: Papier. Tag der Entnahme: 29. 6. 38.

Versuch D 2.

Zu diesem Versuch verwendeten wir kein Mainwasser, sondern Wasser aus einem Nebenflüßchen: der Kürnach. Am Tag der Entnahme herrschte sonniges, heißes Wetter; die Temperatur betrug 20 Grad; entnommen wurde die Wasserprobe um 8^{30} Uhr morgens. Der Ausgangskeimgehalt betrug 439 650 Keime auf 1 ccm.

Tabelle zu D 2.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std
Temperat.:	20°	22,5°	22,5°	22,5°	21,5°	18,5°
Gelatine	209 050	281 100	206 000	verfl.	unzählb.	verfl.
Agar:	230 600	161 000	222 950	106 450	3 840 800	5 089 600
Prozent:	100%	103%	97%	—	—	—

Isolierschicht: Papier. Zeit der Entnahme: 30. 6. 38.

Versuch D 3.

Zum 3. Versuch verwendeten wir wiederum Mainwasser. Es wurde bei strömendem Regen und einer Wassertemperatur von 20 Grad um 13^{30} Uhr entnommen. Als Isolierschicht zwischen Gefäßwandung und Kistenwandung verwendeten wir dieses Mal in dichten Lagen Zellstoff.

Während die Ausgangskeimzahl 4 550 betrug, sahen wir nach 4 Std., trotzdem die Temperatur gleich geblieben war, eine Zunahme auf 6 150 Keime. Nach 8stündiger Aufbewahrungszeit sank sie wiederum etwas ab auf 4 600, die Temperatur war auf 19,5° zurückgegangen. Nach 12 Std. wieder leichte Erhöhung der Keimzahl bei gleichbleibender Temperatur von 19,5° auf 5 000 Keime. Nach 24 Std. Erhöhung der Temperatur auf 21° und Keimerhöhung auf 31 850. Nach 48 Std. weitere Erhöhung des Keimgehaltes auf 18 916 100 bei Zunahme der Temperatur auf 21,5 Grad.

Tabelle zu D 3.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	20°	20°	19,5°	19,5°	21°	21,5°
Gelatine:	3 300	3 300	2 850	3 400	5 950	verfl.
Agar:	1 250	2 850	1 750	1 600	26 000	18 916 100
Prozent:	100%	135%	101%	108%	700%	—

Isolierschicht: Zellstoff. Tag der Entnahme: 6. 7. 38.

Versuch D 4.

Das bei Regen entnommene Kürnachwasser wies eine Entnahmetemperatur von 19 Grad auf. Die um 13^{45} Uhr erfolgte „sofortige Verimpfung" ergab einen Ursprungskeimgehalt von 87 000 Keimen auf 1 ccm. Als Isoliermaterial verwendeten wir auch in diesem Falle wieder Zellstoff.

Nach 4stündiger Aufbewahrung hatte sich die Wassertemperatur um 1 Grad auf 20 Grad erhöht. Ebenso wies auch der Keimgehalt eine wenn auch geringe Zunahme auf: 91 700 Keime. Nach 8 Std. Aufbewahrungszeit hatte sich eine Temperaturerniedrigung auf 19,5 Grad gezeigt, der Keimgehalt war jedoch abermals etwas gestiegen auf 104 750. Dagegen trat nach 12 Std. bei gleichbleibender Temperatur wiederum eine Abnahme der Keime ein auf 57 050. Nach 24 bezw. 48 Std. traten dagegen wie den vorhergehenden Versuchen wiederum eine sehr starke Keimvermehrung ein auf 9 223 200 bezw. 19 770 100. Die Temperaturen waren auf 21 bezw. 21,5 Grad gestiegen.

Tabelle zu D 4.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	19^0	20^0	$19{,}5^0$	$19{,}5^0$	21^0	$21{,}5^0$
Gelatine:	42 850	45 150	48 100	18 600	unzählbar	verfl.
Agar:	44 150	46 550	56 650	48 450	9 223 200	19 770 100
Prozent:	100%	105%	120%	77%	—	—

Isolierschicht: Zellstoff. Tag der Entnahme: 6. 7. 38.

Versuch D 5.

Die um 12 Uhr vormittags entnommene Wasserprobe wies eine Ausgangstemperatur von 19 Grad und einen Ursprungskeimgehalt von 3 600 Keimen auf 1 ccm auf. Am Tage der Entnahme herrschte starker Regen. Als Isoliermaterial benützten wir dieses Mal Papierwolle.

Tabelle zu D 5.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	19^0	19^0	18^0	19^0	$18{,}5^0$	$19{,}5^0$
Gelatine:	2 550	3 500	3 100	verfl.	verfl.	unzählbar
Agar:	1 050	1 250	1 450	950	1 100	715 500
Prozent:	100%	132%	126%	26%	30%	—

Isolierschicht: Papierwolle. Tag der Entnahme: 11. 7. 38.

Versuch D 6.

Die Ursprungskeimzahl der bei strömendem Regen und einer Wassertemperatur von 19 Grad um 13 Uhr entnommenen Wasserprobe betrug 109 300 auf 1 ccm. Als Isoliermaterial wurde Papierwolle verwendet.

Tabelle zu D 6.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	19°	18°	18°	19°	18,5°	19,5°
Gelatine:	53 100	53 950	36 250	40 150	verfl.	unzählbar
Agar:	56 200	33 650	40 400	27 700	14 250	1 378 700
Prozent:	100%	80%	70%	62%	13%	—

Isolierschicht: Papierwolle. Tag der Entnahme: 11. 7. 38.

Auf Grund der Ergebnisse dieser 6 Versuche glaubten wir uns berechtigt, folgendes festzustellen:

Der Keimgehalt einer Wasserprobe bleibt bedeutend länger konstant, wenn das Wasser in einem Dewar'schen Isoliergefäß aufbewahrt wird. Diese Tatsache beruht wahrscheinlich darauf, daß die bei der Entnahme herrschende Wassertemperatur längere Zeit hindurch beibehalten wird. Daß nach einiger Zeit auch hier, trotz gleichbleibender Temperatur eine Keimzahlveränderung eintrat, ist vielleicht auf die Verbindung mit aqua dest. zurückzuführen, wodurch eine für die Keime andere Umgebung geschaffen wurde.

Zusammenfassend konnten wir jedenfalls feststellen, daß, wenn wir die Ausgangskeimzahl mit 100% annehmen, bei der Versuchen D 1, D 2, D 5 und D 6 immerhin noch nach 8 stündiger Aufbewahrung beinahe die Ausgangswerte erzielt werden konnten. Bei den Versuchen D 3 und D 4 gelang es uns beinahe 12 Std. lang die ursprüngliche Keimzahl zu halten.

Um nun aber einen genauen Überblick zu erhalten, welches der von uns bis jetzt angewandten Verfahren der Aufbewahrung das praktischere sei, trafen wir bei den nächsten 4 Versuchen folgende Anordnung:

Das Wasser wurde auf die übliche Art und Weise entnommen, verdünnt und nun aber nicht mehr in 3, sondern in 4 gleiche Teile geteilt; und zwar wurden 3 davon wieder in den verschiedenen Schränken von 4, 22 und 37 Grad aufbewahrt, während ein Teil in einem Dewar-Isoliergefäß aufbewahrt wurde. Nach 4, 8, 12, 24 und 48 Std. erfolgte dann, wie üblich wieder die Verimpfung auf Gelatine- bezw. Agarplatten.

Vergleichsversuch I.

Die bei strömendem Regen und einer Wassertemperatur von 18 Grad um 11 Uhr morgens entnommene Mainwasserprobe wies eine Ausgangskeimzahl von 10 100 Keimen in 1 ccm auf.

Nach 4stündiger Aufbewahrung im 4-Grad-Schrank waren dagegen nur noch 4 600 Keime zu zählen. Bei der nach 8 Std. erfolgten Verimpfung war wiederum ein leichtes Ansteigen der Keimzahl auf 7 350 feststellbar, die jedoch nach 12 Std. weiterhin auf 7 250 abgesunken war. Nach 24stündiger Aufbewahrung: starke Abnahme der Keime auf 2 350, nach 48 Std. sogar auf 1 800.

Bei der im 22-Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe konnten wir nach 4 Std. bereits ein leichtes Ansteigen der Keimzahl feststellen auf 13 200 Keime. Diese Keimvermehrung hielt an und betrug bei der nach 8 Std. erfolgten Verimpfung bereits 16 600 Keime, bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung 18 550, nach 24stündiger Aufbewahrung war sie auf 19 050 und nach 48 Std. auf über 3 Millionen gestiegen.

Einen ähnlichen Keimzuwachs stellten wir bei der im 37-Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe fest und zwar hatte sich die Keimzahl nach 4 Std. bereits auf 18 050 erhöht, nach 8 Std. war sie auf 44 800 gestiegen. Nach 12 Std. betrug sie bereits über 1 Million und konnte nach 24 bezw. 48 Std. überhaupt nicht mehr gezählt werden.

Demgegenüber verhielt sich die im Dewar-Gefäß aufbewahrte Wasserprobe wie folgt:

Nach 4 Std. bei gleichbleibender Temperatur Keimabnahme auf 6 500. Nach 8 Std. wiederum geringes Ansteigen der Keimzahl auf 10 150 (Temp.: 18,5°). Nach 12 Std. geringe Temperaturerhöhung auf 19 Grad und Keimzunahme auf 14 500 Keime. Nach 24 Std. weiterer Temperaturanstieg auf 19,5° und starke Keimzunahme auf über 2 Millionen. Nach 48 Std. wurden bereits über 13 Millionen Keime gezählt.

Vergleichsversuch I am 13. 7. 38.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: Regen. Temp. *18°*. Zeit: 10 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	8 500	1 600	100%						
n. 4 Std.	3 850	750	45%	12 600	600	131%	17 000	1 050	178%
n. 8 Std.	5 500	1 850	72%	15 000	1 600	164%	27 650	17 150	—
n. 12 Std.	6 750	500	71%	16 700	1 850	183%	538 600	788 050	—
n. 24 Std.	1 900	450	23%	16 700	2 350	188%	unzählb.	unz.	—
n. 48 Std.	1 450	350	17%	1 416 350	1923 450		unzählbar	unz.	—

Dewar-Gefäß.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	18°	18°	18,5°	19°	19,5	20°
Gelatine:	8 500	4 900	5 450	11 800	1 994 950	138 348
Agar:	1 600	1 600	4 200	2 700	390 000	13 535 900
Prozent:	100%	64%	96%	145%	—	—

Isolierschicht: Papierwolle.

Vergleich.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
4 Grad:	100%	45%	72%	71%	23%	17%
22 Grad:	100%	131%	164%	183%	188%	—
37 Grad:	100%	178%	—	—	—	—
Dewar:	100%	64%	96%	145%	—	—

Vergleichsversuch II.

Der Ausgangskeimgehalt der bei strömendem Regen und einer Wassertemperatur von 18 Grad um 10^{30} entnommenen Wasserprobe betrug 13 500.

Wie in allen vorhergehenden Versuchen bemerkten wir auch in diesem Falle bei der im 4-Grad-Schrank stehenden Wasserprobe eine stetige Keimabnahme, und zwar betrug sie nach 4 Std. 8 550, nach 8 Std. 7 800, nach 12 Std. 9 550, nach 24 Std. 5 300 und nach 48 Std. nur noch 1000 Keime im ccm.

Dagegen nahm der Keimgehalt der im 22-Grad-Schrank stehenden Wasserprobe wieder stetig zu: nach 4stündiger Aufbewahrung Ansteigen des Keimgehalts auf 10 150. Nach 8 Std. Ansteigen auf 18 400. Das Wasser, das bereits 12 Std. im Schrank gestanden war, wies einen Keimgehalt von 19 950 auf. Nach 24 bezw. 48 Std. Aufbewahrung hatte sich der Keimgehalt noch mehr erhöht auf 574 650 bezw. auf über 50 Millionen.

Ähnliche Verhältnisse zeigten sich bei der im 37 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe: nach 4 Std. Ansteigen auf 13 000 Keime, nach 8 Std. auf 16 100, nach 12 Std. waren es bereits 368 650 Keime. Nach 24stündiger Aufbewahrung hatte die Keimzahl bereits die 2 Millionen-Grenze überschritten und konnte nach 48 Std. überhaupt nicht mehr gezählt werden.

Demgegenüber ergaben sich bei der im Dewar-Gefäß aufbewahrten Wasserprobe folgende Werte: Nach 4 Std. leichtes Absinken auf 11 400 Keime bei gleichbleibender Temperatur. Nach 8 Std. wieder Zunahme auf 17 600 (15,5°). Nach 12 Std. weitere Zunahme 24 500 (Temp. 19,5°). Nach 24 bezw. 48 Std. nochmalige Zunahme auf 1 377 900 bezw. „unzählbar". Temp. hatten sich auf 20. bezw. 20.5° erhöht.

II. Vergleichsversuch am 13. 7. 38.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: Regenfälle. Temp.: *18°*. Zeit: 10^{30} Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	11 100	2 400	100%						
n. 4 Std.	7 100	1 450	65%	3 150	10 000	97%	12 000	1 000	96%
n. 8 Std.	4 600	3 200	57%	5 400	13 000	136%	13 350	2 750	117%
n. 12 Std.	7 400	2 150	70%	16 300	3 650	147%	210 400	158 250	—
n. 24 Std.	4 200	1 100	39%	392 800	181 850	—	1 361 950	680 400	—
n. 48 Std.	700	300	7%	34 216 200	18 191 950	—	unzählbar		—

Dewar-Gefäß.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	15°	15°	15,5°	19,5°	20°	20,5°
Gelatine:	8 400	8 000	13 500	20 000	562 200	unzählbar
Agar:	5 100	3 400	4 100	4 500	815 700	1 687 200
Prozent:	100%	84%	129%	18%	—	—

Isolierschicht: Papierwolle.

Vergleich.

	sofort:	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
4 Grad:	100%	63%	57%	70%	39%	7%
22 Grad:	100%	97%	136%	147%	—	—
37 Grad:	100%	96%	117%	—	—	—
Dewargef.:	100%	84%	129%	180%	—	—

Vergleichsversuch III.

Zu diesem Versuch verwendeten wir wiederum Leitungswasser. Die Entnahme erfolgte um 9^{30} Uhr morgens bei einer Wassertemperatur von 7 Grad. Der Ausgangskeimgehalt betrug 27 Keime im ccm..

Bei der im 4 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe trat nach 4 Std. Aufbewahrung eine leichte Keimvermehrung auf 28,5 ein. Sie sank allerdings bei der nach 8 Std. erfolgten Verimpfung auf 26 ab und bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung auf 13. Nach 24stündiger Aufbewahrung: wiederum geringe Zunahme auf 17,5; nach 48 Std. konnten nur noch 3,5 Keime gezählt werden.

Nach 4stündiger Aufbewahrung im 22 Grad-Schrank hatte sich diesmal der Keimgehalt nicht verändert. Dagegen erfolgte nach 8 Std. eine gewaltige Vermehrung auf 95 Keime. Diese Vermehrung hielt bei den folgenden Verimpfungen an: nach 12 Std. betrug sie 1 423, nach 24 Std. 220 406 und konnte nach 48 Std. überhaupt nicht mehr gezählt werden.

Dagegen trat bei der im 37 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe nicht wie wir erwartet hatten eine Keimvermehrung ein, sondern nach 4 Std. bereits eine Abnahme auf 17. Die Keimzahl sank weiter nach 8 Std. auf 11, nach 12 Std. auf 7, und nach 24 Std. auf 7,5. Nach 48stündiger Aufbewahrung konnten keine Werte ermittelt werden, da die Gelatineplatte verflüssigt und auf Agar nichts gewachsen war.

Die entsprechenden Werte des im Dewar-Gefäß aufbewahrten Wassers waren: 4 Std. geringe Zunahme auf 28 Keime. Dagegen nach 8 Std. Abnahme auf 24, nach 12 Std. wiederum geringe Zunahme auf 25, nach 24 Std. starke Zunahme auf 1 446. Nach 48 Std. konnten die Keime nicht mehr gezählt werden.

Vergleichsversuch III am 18. 7. 38.

Leitungswasser aus Heidingsfeld.

Temp. 7 *Grad*. Zeit: 9^{30} Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad		22 Grad		37 Grad	
verimpft auf	Gelat.	Agar.	Gelat.	Agar.	Gelat.	Agar.
sofort:	22	5				
n. 4 Stunden	23	5	23	4	14	3
n. 8 Stunden	14	12	74	19	10	1
n. 12 Stunden	10	3	1 220	203	5,5	2
n. 24 Stunden	10	7,5	120 137	100 269	5,5	2
n. 48 Stunden	2	1,5	unzählbar		verflüssigt	

Dewar-Gefäß.

	sofort:	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	7^0	17^0	$16{,}5^0$	$17{,}5^0$	17^0	18^0
Gelatine:	21	17,5	11	13,5	929	unzählbar
Agar:	6	10,5	13	11,5	517	91 817

Isolierschicht: Zellstoff.

Vergleichsversuch IV.

Der Ausgangskeimgehalt der bei sonnigem, warmem Wetter und einer Wassertemperatur von 16 Grad um 9^{45} Uhr entnommenen Wasserprobe betrug 19 772 im ccm.

Nach 4stündiger Aufbewahrung im 4 Grad-Schrank trat eine Keimverminderung auf 17 047 ein. Diese Keimabnahme hielt an und betrug bei der nach 8 Std. vorgenommenen Verimpfung 11 345, nach 12 Std. nur noch 8 707, nach 24 Std. 6 387 und nach 48 Std. 5 864 Keime im ccm.

Auch bei der im 22 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe trat zunächst eine Keimverminderung auf und zwar betrug sie bei der nach 4 Std. erfolgten Verimpfung 9 690, nach 8 Std. nur 15 863 Keime. Nach 12stündiger Aufbewahrung setzte dann aber wieder eine Keimvermehrung ein auf 29 693. Nach 24 bezw. 48 Std. konnten die Keime nicht mehr gezählt werden.

Bei der im 37 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe lieferte uns nur die nach 4 Std. vorgenommene Verimpfung noch einen mittleren Wert (26 856). Alle späteren Verimpfungen konnten nicht mehr gezählt werden.

Das im Dewar-Gefäß aufbewahrte Wasser wies einen geringen Keimverlust nach 4 Std. Aufbewahrung auf (17 771). Die Temp. hatte sich um 1 Grad auf 17 Grad erhöht. Nach 8stündiger Aufbewahrung trat trotz Temperaturrückgangs auf 16,5 Grad eine Keimvermehrung auf 20 222 ein, doch hielt diese Keimvermehrung nicht an, denn nach 12 Std. waren nur 16 697 Keime bei einer Temp. von 17,5 Grad zu zählen. Nach 24 stündiger Aufbewahrung setzte dann aber eine starke Keimvermehrung ein auf 58 188, und nach 48 Std. hatten sich die Keime so vermehrt, daß sie nicht mehr gezählt werden konnten.

Vergleichsversuch IV am 18. 7. 38.

1 ccm Pleichachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: sonnig, warm. Temp. *16 Grad.* Zeit: 9^{45} Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort:	12 362	7 410	100%						
n. 4 Std	10 220	6 827	86%	4 571	5 119	48%	12 848	14 006	135%
n. 8 Std.	6 165	5 180	56%	9 181	6 682	80%	verfl.	unzählb.	—
n. 12 Std.	4 707	4 000	45%	15 657	14 036	150%	„	„	—
n. 24 Std.	3 656	2 731	32%	verfl.	unzählb.	—	„	„	—
n. 48 Std.	3 091	2 773	29%	verfl.	unzählb.	—	„	„	—

Dewar-Gefäß.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperatur:	16^0	17^0	$16{,}5^0$	10 640	36 019	verfl.
Gelatine:	17 000	10 765	12 168	6 057	22 169	unzählb.
Agar:	2 772	7 006	8 054	84%	294%	unzählb.
Prozent:	1 004	89%	102%	$17{,}5^0$	17^0	18^0

Isoliermaterial: Zellstoff.

Vergleich.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
4 Grad	100%	86%	56%	45%	32%	29%
22 Grad	100%	48%	80%	150%	—	—
37 Grad	100%	135%	—	—	—	—
Dewar	100%	89%	102%	84%	294%	—

Wenn wir die Ergebnisse aller 4 Versuche miteinander vergleichen, so kommen wir zu folgenden Feststellungen:

Bereits nach 4stündiger Aufbewahrung im Eisschrank bei 4 Grad war, mit Ausnahme des Versuches III, eine Keimschädigung feststellbar. Sie war umso deutlicher, je länger das zu untersuchende Wasser dieser Temperatur ausgesetzt war.

Bei Aufbewahrung im 22 Grad-Schrank trat teils eine Keimzunahme, teils ein Keimtod ein. Nach 4stündiger Aufbewahrung zeigten ebenfalls nur noch Versuch II und III Werte, die einigermaßen dem Ausgangswert gleichkamen. Die nach 8 Std. erzielten Werte waren bereits nicht mehr verwendbar.

Bei den im 37 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserproben gelang es nur beim Versuch II nach 8 Std. noch einigermaßen wahrheitsgetreue Ergebnisse zu erhalten. Bei den übrigen 3 Versuchen entsprachen bereits die nach 4 Std. erfolgten Verimpfungen nicht mehr den Ursprungswerten.

Wenn auch das Dewar-Gefäß nicht als das idealste Aufbewahrungsgefäß gelten kann, so lieferte es uns doch immerhin die brauchbarsten Ergebnisse. Nach 4stündiger Aufbewahrung zeigten mit Ausnahme des Versuches I sich überall durchaus brauchbare Werte. Auch nach 8stündiger Aufbewahrung konnten die Ergebnisse noch durchaus als brauchbar angesehen werden. Im Versuch III und IV entsprachen sogar die nach 12 Std. erfolgten Verimpfungen unter gewissen Einschränkungen beinahe noch den Ursprungswerten.

Somit würde man also das „Dewar-Gefäß" als das geeignetste Transportmittel bezw. Aufbewahrungsmittel empfehlen können; auf alle Fälle ist es praktischer als der Transport in einem mit Eisbrocken gefüllten Kasten.

Nach einer Pause von 3 Monaten wurden nun im Oktober die Versuche wieder fortgesetzt. Wie schon eingangs erwähnt, kam es uns darauf an, festzustellen, ob in dieser Jahreszeit die herrschenden niedrigen Tagestemperaturen einen Einfluß auf unsere bisher gewonnenen Ergebnisse ausüben würden. Es sei schon gleich im voraus erwähnt, daß dies nicht der Fall war und die Versuche, die wir auf dieselbe Art und Weise wie im Sommer durchführten, genau dasselbe Bild hinsichtlich ihrer Keimzahländerung aufwiesen, wie die bisher durchgeführten Versuche.

Versuch 8.

Bei der bei sonnigem, warmem Wetter und einer Wassertemperatur von 16 Grad um 10 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe aus der Kürnach stellten wir einen Ausgangskeimgehalt von 10 050 fest.

Bei dem im Eisschrank aufbewahrten Teil traten nun, wie es ja zu erwarten war, die üblichen Keimzahlverminderungen ein: Nach 4 Std. Abnahme auf 2 300; nach 8 Std. wiederum geringe Zunahme auf 3 400; nach 12 Std. ebenso wie nach 24stündiger Aufbewahrung war der Keimgehalt auf 1 400 gesunken. Nach 48 Std. wurden nur mehr 500 Keime gezählt.

Während bei der im 22 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe nach 4 Std. zunächst eine Abnahme auf 4 250 eintrat, nahmen die Keime während der nächsten Std. rasch zu. Nach 8 Std. betrugen sie 18 650; nach 12 Std. 13 050; nach 24 Std. 93 555; nach 48 Std. konnten die Keime nicht mehr gezählt werden.

Auch die bei 37 Grad aufbewahrte Wasserprobe wies nach 4stündiger Aufbewahrung zunächst eine Keimabnahme auf 6 200 auf; dagegen hatten sie sowohl bei der nach 8 als auch bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung sehr stark zugenommen. Nach 24 bezw. 48 Std. konnten die Keime nicht mehr gezählt werden.

Versuch 8 am 18. 10. 38.

1 ccm Kürnachwasser in 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: sonnig, warm. Temp.: *16 Grad*. Zeit: 10 Uhr.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf	Gelat.	Agar.	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	7 600	2 450	100%						
n. 4 Std.	1 00	1 300	22%	2 000	2 250	42%	4 000	2 200	61%
n. 8 Std.	2 000	1 400	33%	16 500	2 150	185%	17 000	45 000	616%
n. 12 Std.	500	900	13%	10 000	3 050	139%	39 000	27 800	664%
n. 24 Std.	700	700	13%	45 120	48 435	—	unzählbar		—
n. 48 Std.	flüssig	500	5%	flüssig	56 250	—	unzählbar		—

Versuch 9.

Die bei sonnigem, warmem Wetter und einer Wassertemperatur von 22 Grad um 10^{30} Uhr entnommene Wasserprobe aus dem Main wies einen Keimgehalt von 18 200 Keimen im ccm auf.

Nach 4stündiger Aufbewahrung bei 4 Grad hatte sich diese Zahl bereits auf 12 700 erniedrigt. Nach 8 Std. sank sie weiterhin auf 7 400, um nach 12stündiger Aufbewahrung wieder etwas anzusteigen auf 12 550. Dagegen traten sowohl bei der nach 24 Std. als auch bei der nach 48 Std. erfolgten Verimpfung weitere Keimabnahmen auf 6 400 bezw. 2 400 ein.

Bei der im 22 Grad-Schrank aufbewahrten Probe trat nach 4 Std. ebenfalls zunächst eine Keimabnahme auf 16 050 ein. Allerdings erholten sich die Keime dann sehr rasch wieder, sodaß bereits nach 8 Std. 30 180 Keime gezählt werden konnten. Nach 12stündiger Aufbewah-

rung hatten sich die Keime bereits auf 41 000 vermehrt. Nach 24- bezw. 48stündiger Aufbewahrung konnten die Keime nicht mehr gezählt werden.

Die im 37 Grad-Schrank aufbewahrte Wasserprobe zeigte bei der nach 4 Std. erfolgten Verimpfung ebenfalls eine Keimverminderung auf 13 800. Diese Zahl stieg bei der nach 8 Std. erfolgten Verimpfung etwas an auf 16 550, erreicht aber immer noch nicht den Ausgangswert. Nach 12 Std. Aufbewahrung vermehrten sich die Keime jedoch plötzlich sehr rasch. Der Keimgehalt stieg auf 451 200 an. Nach 24 Std. hatte er bereits die 2 Millionengrenze überschritten, und nach 48 Std. war eine genaue Keimzählung überhaupt nicht mehr möglich, da die Gelatineplatten verflüssigt waren und auf den Agarplatten ein ganzer Rasen gewachsen war.

Versuch 9 am 18. 10. 38.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: sonnig, warm. Temp.: *22 Grad*. Zeit: 10^{30}.

aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf	Gelat.	Agar.	Proz	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	8 400	9 800	100%						
n. 4 Std.	6 800	5 900	69%	6 900	9 150	87%	8 050	5 750	75%
n. 8 Std.	2 000	5 400	40%	10 630	19 550	164%	8 500	8 050	90%
n. 12 Std.	8 000	4 550	69%	7 000	34 000	225%	161 550	289 650	—
n. 24 Std.	4 250	2 150	35%	unzählbar		—	unzählbar		—
n. 48 Std.	flüssig	2 700	13%	unzählbar		—	unzählbar		—

Zu den folgenden Versuchen verwendeten wir wiederum die Dewar-Isoliergefäße.

Versuch D 7.

Die sofortige Verimpfung der bei sonnigem Wetter und einer Wassertemperatur von 16 Grad um 10 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe ergab einen Keimgehalt von 11 500 Keimen im ccm.

Nach 4stündiger Aufbewahrung hatte sich die Temperatur auf 17 Grad erhöht, die Keimzahl war dagegen etwas abgesunken auf 11 050 Keime. Nach 8 Std. war eine weitere Keimabnahme zu bemerken, trotzdem sich die Temperatur ziemlich konstant bei 16 Grad gehalten hatte (6 900 Keime). Nach 12stündiger Aufbewahrung erfolgte eine weitere Keimabnahme auf 6 300 (16,5 Grad). Dagegen ergaben sowohl die nach 24 als auch die nach 48 Std. vorgenommenen Verimpfungen ein plötzliches sehr starkes Anwachsen der Keime auf 116 900 bezw. 6 241 900, trotzdem die Temperatur mit 16,3 bezw. 18 Grad fast der Ausgangstemperatur entsprachen.

Tabelle zu D 7.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	16°	17°	16°	16,5°	16,3°	18°
Gelatine:	8 200	3 900	3 250	1 300	11 175	flüssig
Agar:	3 300	7 150	3 650	5 000	5 150	6 241 900
Prozent:	100%	96%	60%	54%	—	—

Isoliermaterial: Holzwolle.

Tag der Entnahme: 20. 10. 38.

Versuch D 8.

Der Ausgangskeimgehalt der bei sonnigem, warmem Wetter und einer Wassertemperatur von 22 Grad um 10^{30} entnommenen Mainwasserprobe betrug 2 900 Keime im ccm.

Bei der nach 4 Std. erfolgten Verimpfung hatte sich die Wassertemperatur auf 18 Grad abgekühlt; ebenso war auch der Keimgehalt auf 2 100 Keime gesunken. Nach 8stündiger Aufbewahrung war die Temperatur noch weiter zurückgegangen auf 16 Grad, die Keimzahl war dagegen etwa angestiegen auf 2 300. Dieser Anstieg der Keimzahl hielt weiterhin an und betrug bei der nach 12 Std. vorgenommenen Verimpfung 2 650 Keime. Die Temperatur war um ½ Grad auf 16,5 Grad gestiegen. Auch nach 24 Std. hielt der Keimzuwachs an; er betrug 2 800 und erreichte damit beinahe den Ausgangswert. Die Temperatur hatte sich nicht verändert. Die nach 48 Std. vorgenommene Verimpfung ergab dagegen leider kein genaues Bild mehr, da die Gelatine bereits nach 12 Std. vollkommen verflüssigt war. Die Temperatur war etwas angestiegen auf 17 Grad.

Tabelle zu D 8.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	22°	18°	16°	16,5°	16,5°	17°
Gelatine:	1 600	1 000	1 150	1 550	1 900	flüssig
Agar:	1 300	1 100	1 150	1 100	900	1 150
Prozent:	100%	72%	78%	91%	93%	39%

Isoliermaterial: Holzwolle.

Tag der Entnahme: 20. 10. 38.

Bei den folgenden 2 Versuchen trafen wir wieder die alte Einteilung mit dem 4, 22 und 37 Grad-Schrank.

Versuch 10.

Bei der Entnahme der Wasserprobe herrschte kaltes, feuchtes Wetter und eine Wassertemperatur von 8,5 Grad. Der Ausgangskeimgehalt wurde mit 15 500 Keimen bestimmt.

Nach 4 stündiger Aufbewahrung im 4 Grad-Schrank waren nur noch 7 850 Keime feststellbar. Sie nahmen auch nach 8 Std. Aufbewahrungszeit wieder etwas zu auf 14 450, um nach 12stündiger Aufbewahrung weiterhin auf 10 550 abzusinken. Nach 24- bezw. 48stündiger Aufbewahrung war die Keimschädigung noch deutlicher; die Werte sanken auf 6 900 bezw. 5 550.

Die im 22 Grad-Schrank aufbewahrte Wasserprobe ließ nach 4 Std. ebenfalls einen Keimrückgang erkennen (15 050). Doch trat bereits nach 8stündiger Aufbewahrung wieder eine starke Keimzunahme ein (21 900). Diese Keimvermehrung hielt an und betrug bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung bereits 30 100 Keime. Nach 24 Std. hatten sich die Keime auf über 4 Millionen vermehrt. Nach 48 Std. konnten sie nicht mehr gezählt werden.

Das im 37 Grad-Schrank aufbewahrte Wasser ließ bereits nach 4 Std. einen Keimzuwachs erkennen. Und zwar zählen wir 17 050 Keime. 8 Std. nach der Entnahme der Wasserprobe hatte sich der Keimgehalt beinahe verdreifacht: 45 000 Keime im ccm. Nach 12stündiger Aufbewahrung zählten wir bereits 1 137 600 Keime. Nach 24 bezw. 48 Std. hatten sich die Keime derartig vermehrt, daß sie einen förmlichen „Rasen" bildeten und nicht mehr zu zählen waren.

10. Versuch am 21. 10. 38.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

Wetter: kalt, feucht, neblig. Temp. 8,5°. Zeit: 10 Uhr.

Aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf	Gelat.	Agar.	Proz	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	13 850	1 650	100%						
n. 4 Std.	6 200	1 650	50%	13 150	1 900	96%	13 200	3 850	110%
n. 8 Std.	13 950	500	93%	21 500	400	141%	45 500	300	296%
n. 12 Std.	8 050	2 500	68%	19 500	10 600	194%	336 100	101 500	—
n. 24 Std.	5 350	1 550	44%	2 413 150	2 351 400	—	unzählbar		—
n. 48 Std.	4 750	800	35%	unzählbar		—	unzählbar		—

Versuch 11.

Der Ausgangskeimgehalt der bei feuchtem, nebligem Wetter und einer Wassertemperatur von 12 Grad um 10 Uhr morgens entnommenen Wasserprobe betrug 40 900 Keime im ccm.

Bereits nach nur 4stündiger Aufbewahrung im Eisschrank bei 4 Grad hatten die Keime abgenommen auf 29 650. Die nach 8 Std. erfolgte

Verimpfung zeigte einen geringeren Keimgehalt: 17 300. Dagegen hatte sich der Keimgehalt nach 12stündiger Aufbewahrung wieder etwas erhöht, ohne natürlich den Ursprungswert zu erreichen (23 900). 24 Std. nach der Entnahme war die Keimzahl noch weiter zurückgegangen auf 14 500 und nach 48 Std. betrug sie nur noch 14 750 Keime im ccm.

Entgegen den Erwartungen trat auch hier bei der im 22 Grad-Schrank aufbewahrten Wasserprobe zunächst eine Keimabnahme ein. Sie betrug nach 4 Std. 40 750 Keime. Nach 8stündiger Aufbewahrung ging die Keimzahl noch weiter auf 32 200 Keime zurück. Dagegen hatten sich bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung die Keime wieder erholt und beträchtlich zugenommen (131 500 Keime). Nach 24 bzw. 48 Std. waren die Keime nicht mehr zu zählen.

Merkwürdigerweise zeigte auch die im 37 Grad-Schrank verbliebene Probe zunächst einen Keimrückgang. Nach 4 Std. war die Keimzahl auf 37 550 gesunken; nach 8stündiger Aufbewahrung hatte sich die Zahl wieder etwas erhöht (40 300), betrug aber immer noch weniger als der Ausgangswert. Nach 12 Std. erfolgte dagegen wieder ein gewaltiger Keimzuwachs auf 441 620. Nach 24 bzw. 48 Std. waren die Keime nicht mehr zählbar.

Versuch 11 am 22. 10. 38.

1 ccm Kürnachwasser auf 99 ccm aqua dest. st.
Wetter: kalt, feucht, neblig. Temp.: *12 Grad*. Zeit: 10 Uhr.

Aufbewahrt bei	4 Grad			22 Grad			37 Grad		
verimpft auf:	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar	Proz.	Gelat.	Agar.	Proz.
sofort	31 600	9 300	100%						
n. 4 Std.	23 450	6 200	72%	36 000	4 750	99%	28 400	9 150	91%
n. 8 Std.	15 150	2 150	42%	27 400	4 800	78%	36 550	3 750	98%
n. 12 Std.	16 700	7 300	59%	115 300	16 200	321%	227 655	231 965	—
n. 24 Std.	11 550	2 950	35%	unzählbar		—	unzählbar		—
n. 48 Std.	10 500	4 250	36%	unzählbar		—	unzählbar		—

Die folgenden beiden Versuche wurden wieder unter Verwendung des „Dewar'schen" Isoliergefäßes durchgeführt.

Versuch D 9.

Der Ausgangskeimgehalt der bei kaltem, nebligem Wetter und einer Wassertemperatur von 14 Grad um 9 Uhr entnommenen Wasserprobe betrug 14 000 Keime im ccm.

Nach 4stündiger Aufbewahrung hatte sich die Gefäßtemperatur etwas erhöht auf 16 Grad, dagegen hatten die Keime auf 13 400 abgenommen. 8 Std. nach der Entnahme fanden wir, bei fast konstant gebliebener Temp. von 15 Grad, nur mehr einen Keimgehalt von

11 650. Nach 12stündiger Aufbewahrung hatten sich die Keime wieder etwas vermehrt (13 550). Die Temperatur war auf 16,5 Grad gestiegen. Bei der nach 24 Std. erfolgten Verimpfung zeigte sich plötzlich ein sehr starkes Anwachsen der Keime auf 714 500. Die Temperatur war dabei auf 17,3 Grad gestiegen. Die nach 48 Std. vorgenommene Verimpfung lieferte keine genauen Werte mehr, da die Gelatineplatten nicht zählbar waren.

Tabelle zu D 9.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std
Temperat.:	14^0	16^0	15^0	$16{,}5^0$	$17{,}3^0$	$17{,}5^0$
Gelatine:	11 000	9 600	8 150	10 250	690 150	unzählb.
Agarent:	3 000	3 800	3 500	3 300	24 350	11 130 900
Prozent:	100%	95%	83%	96%	—	—

Isoliermaterial: Papierwolle.

Tag der Entnahme: 22. 10. 38.

Versuch D 10.

Die bei sonnigem, heiterem Wetter und einer Wassertemperatur von 14 Grad um 11^{30} Uhr entnommene Mainwasserprobe lieferte uns bei der sofortigen Verimpfung einen Ausgangskeimgehalt von 4 900 Keimen im ccm.

Nach 4stündiger Aufbewahrung trat nun wiederum eine Keimzahlverminderung ein. Und zwar ging der Keimgehalt, trotz gleichbleibender Temperatur etwas zurück auf 4 350 Keime. Nach 8 Std. hatte sich die Temperatur des Gefäßes der Umgebung etwas angeglichen und war auf 15.9^0 gestiegen. Die Keime hatten dagegen weiterhin auf 4 200 abgenommen. 12 Std. nach der Entnahme hatten sich die Keime wieder etwas vermehrt und erreichten nicht ganz den Ausgangswert (4 700). Die Temperatur hatte sich bei 15,9 Grad gehalten. Wie auch bei den vorhergehenden Versuchen setzte auch in diesem Versuch nach 24stündiger Aufbewahrung ein sehr starkes Wachstum ein, und zwar erhöhte sich der Keimgehalt auf 43 350. Die nach 48 Std. vorgenommene Verimpfung konnte nicht mehr gezählt werden.

Tabelle zu D 10.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	14^0	14^0	$15{,}8^0$	$15{,}9^0$	$15{,}7^0$	$15{,}5^0$
Gelatine:	2 550	2 750	2 550	2 900	37 200	unzählb.
Agar:	2 350	1 600	1 650	1 800	6 150	unzählb.
Prozent:	100%	88%	85%	95%	—	—

Isoliermaterial: Papierwolle.

Tag der Entnahme: 24. 10. 38.

Versuch D 11.

Der Ausgangskeimgehalt der bei sonnigem, warmem Wetter und einer Wassertemperatur von 14 Grad um 10 Uhr entnommenen Wasserprobe betrug 5 000 Keime im ccm.

Nach 4 Std. Aufbewahrung hatten die Keime etwas abgenommen auf 4 400 Keime. Die Temperatur war auf 15 Grad gesunken. Nach 8stündiger Aufbewahrung trat nun plötzlich wieder eine ziemlich starke Keimvermehrung ein, und zwar erhöhte sich der Keimgehalt bei gleichbleibender Temperatur auf 6 650 Keime. Auch bei der nach 12 Std. erfolgten Verimpfung lag er etwas über dem Ausgangswert und betrug 5 050 Keime. Nach 24stündiger Aufbewahrung aber hatte sich der Keimgehalt wieder wesentlich erniedrigt und betrug nur noch 4 300 Keime. Die Temperatur war mit 13,5 Grad verhältnismäßig konstant geblieben. Die nach 48 Std. vorgenommene Verimpfung ergab einen enormen Keimzuwachs auf 785 100 Keime.

Tabelle zu D 11.

1 ccm Mainwasser auf 99 ccm aqua dest. st.

	sofort	n. 4 Std.	n. 8 Std.	n. 12 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.
Temperat.:	14°	13°	13,5°	13,5°	13,5°	13,5°
Gelatine:	2 650	2 550	4 450	3 600	2 900	764 200
Agar:	2 350	1 850	2 200	1 450	1 400	18 900
Prozent:	100%	88%	133%	101%	86%	—

Isoliermaterial: Zellstoff.
Tag der Entnahme: 25. 10. 38.

Übersicht:

Auf Grund unserer Versuche kommen wir zu folgenden Ergebnissen: Der Keimgehalt einer Wasserprobe ist großen Schwankungen unterworfen, die scheinbar wiederum abhängig sind von der umgebenden Temperatur und von der Dauer der Aufbewahrung. Es ist also durchaus nicht gleichgültig, wie lange es dauert, bis eine Wasserprobe auf den Untersuchungstisch des Hygienikers kommt; denn in der Zeit, die zwischen der Entnahme und der Verarbeitung des Wassers verstreicht, können sich derartige Keimveränderungen in der Wasserprobe abspielen, daß das Ergebnis der trotzdem vorgenommenen Untersuchung durchaus nicht mehr den Tatsachen entspricht; wenn also schon eine Verarbeitung an Ort und Stelle nicht vorgenommen werden kann, was sehr oft der Fall ist, so muß zum mindesten dafür Sorge getragen werden, daß der Transport einer solchen Wasserprobe mit der größtmöglichen Beschleunigung vor sich geht. Von ebenso großer Bedeutung ist aber auch die Wahl des Gefäßes, in dem

eine Wasserprobe versandt wird. Denn unsere Versuche haben gezeigt, daß die Wahrscheinlichkeit einer den wirklichen Tatsachen entsprechenden Beurteilung größer ist, wenn es gelingt, die bei einer Entnahme herrschende Temperatur beizubehalten. Am geeignetsten erwies sich in unseren Versuchen hierzu das Dewar-Isoliergefäß. Während bei der Aufbewahrung bei 4, 22 und 37 Grad bereits nach 4 Std. oft eine sehr starke Keimveränderung nachweisbar war, gelang es immerhin bei der im Dewar-Gefäß aufbewahrten Probe, noch nach 8, manchmal sogar nach 12 Std. Werte zu erhalten, die einigermaßen den Ausgangswerten entsprachen. Dagegen waren die bei den anderen Aufbewahrungsarten erhaltenen Werte nach 8 Std. spätestens aber nach 12 Std. völlig unbrauchbar, da sie im Verhältnis zu den Ausgangswerten entweder eine sehr starke Keimzahlverminderung oder Keimvermehrung aufwiesen. Auch die bis jetzt noch vielfach verbreitete Methode des Transportes einer Wasserprobe in mit Eis gefüllten Kupferkästen ist nicht als zuverlässig anzusprechen. Denn in unseren Versuchen zeigte sich deutlich, daß die plötzliche Erniedrigung der Umgebungstemperaturen sich in einer verhältnismäßig starken Keimabnahme bemerkbar machte, was entweder auf einen direkten Keimtod, zum mindesten aber auf eine Keimschädigung zurückzuführen ist. Außerdem ist der Transport in solchen Gefäßen sehr umständlich und zeitraubend.

In diesem Zusammenhang wäre auch noch das in der Wehrmacht gebräuchliche Transportmittel für die zu untersuchenden Wasserproben zu erwähnen. Auch dieses entspricht durchaus nicht den Anforderungen, die man an ein solches Gefäß stellen muß. Nicht nur daß die Isolierfähigkeit, d. h. die Fähigkeit, die bei der Entnahme herrschende Temperatur zu halten, äußerst gering ist, sondern auch die zur Entnahme und zum Transport verwendeten Glasröhrchen sind nicht als ideales Beförderungsmittel anzusehen, wie unsere damit angestellten Versuche ergaben. Es muß im Interesse einer einwandfreien hygienischen Beurteilung unbedingt verlangt werden, daß ein Heranbringen von Keimen von außen in die zu untersuchende Wasserprobe unmöglich ist. Diese Forderung kann aber nicht erfüllt werden, wenn die Entnahmeröhrchen bereits von vorneherein mit einem Gummistöpsel verschlossen werden, den man nach Füllung des Gefäßes nicht einmal abflammen kann.

Auf Gund unserer Versuche können wir uns auch mit den Ansichten von Huß nicht ganz einverstanden erklären, wenn er der Meinung ist, „daß ein Transport ohne störende Veränderung der Bakterienflora 72 Std. dauern kann, wenn man die Temperatur zwischen 3 und 5 Grad hält". Denn gerade unsere Versuche haben gezeigt, daß niedrige Temperaturen von 4 Grad eine keimschädigende Wirkung ausüben. Und zwar machte sich dieser keimschädigende Einfluß nicht erst nach 72 Std. bemerkbar, sondern trat meist sehr deutlich bereits nach 8stündiger Aufbewahrung ein.

Auch das „Bayerische Staatsministerium des Innern“ fordert in seinem Erlaß vom 21. 4. 14, daß das Gefäß, in dem die Probe verwahrt wird, mit klein gehacktem Eis gekühlt sein soll (siehe S. 4). Immerhin wird in diesem Erlaß eine Transportzeit von höchstens 24 Std. angegeben. Doch auch diese Zeitspanne ist unserer Meinung nach viel zu groß, um eine einwandfreie hygienische Beurteilung noch gewährleisten zu können.

Wie unsere Versuche ergeben haben, bleibt der Keimgehalt einer Wasserprobe am konstantesten, wenn es gelingt, die bei der Entnahme bestehende Temperatur möglichst lange beizubehalten (siehe auch die Vergleichsversuche). Da jedoch auch hier im Laufe der Zeit eine Änderung der Keimzahl festzustellen war, müßte auch bei der Verwendung eines Dewar-Isoliergefäßes darauf gedrungen werden, daß der Transport mit der größtmöglichen Beschleunigung vor sich geht, um eine allzu große Keimzahlveränderung hintanzuhalten.

Unserer Meinung nach müßte also die Bestimmung über den Transport von Wasserproben ungefähr folgendermaßen lauten:

„1. Die Entnahme einer Wasserprobe hat unter Beachtung aller hygienischen Vorsichtsmaßregeln zu erfolgen (sterile Entnahme, steriles Gefäß, sterile Verpackung).

2. Um ein einwandfreies Ergebnis zu erhalten, soll die Untersuchung möglichst an Ort und Stelle erfolgen.

3. Wo eine solche Untersuchung wegen verschiedener Gründe an Ort und Stelle unmöglich ist, soll zum Versand einer Wasserprobe ein Dewar-Isoliergefäß benützt werden.

4. Die Zeit zwischen der Entnahme der Probe und ihrer Verarbeitung darf 12 Std. nicht überschreiten.“

Zusammenfassung.

1. In einer Reihe von Versuchen wurde gezeigt, daß der Keimgehalt einer Wasserprobe starken Schwankungen unterworfen ist. Und zwar sind diese Schwankungen abhängig von der Temperatur, in der die Probe aufbewahrt wird.

2a. Bei der Aufbewahrung im Eisschrank bei 4 Grad trat in den überwiegenden Fällen bereits nach 4 Std. eine Keimschädigung, wenn nicht sogar ein Keimtod ein, sodaß also die Ergebnisse unter den Ausgangswerten lagen.

b. Bei der Aufbewahrung im 22 Grad-Schrank trat in den meisten Fällen nach spätestens 8stündiger Aufbewahrung eine zwar langsame, aber immerhin stetige Zunahme der Keime ein.

c. Dagegen zeigte sich bei den im 37 Grad-Schrank aufbewahrten Proben ein sehr starker und plötzlicher Keimzuwachs in dem Maße, daß bereits nach 12 Std. die Keime überhaupt nicht mehr gezählt werden konnten.

3. Als für den Transport einer Wasserprobe am geeignetsten erwies sich das Dewar-Isoliergefäß, da in ihm der bei der Entnahme herrschende Zustand des Wassers am längsten beibehalten wurde.
4. Die Aufbewahrungsdauer im Dewar-Gefäß darf 12 Std. nicht überschreiten, da sich auch hier nach Ablauf dieser Zeit starke Keimveränderungen abspielen.
5. Die jeweilige Jahreszeit oder die bei der Entnahme herrschende Temperatur hatte keinen nennenswerten Einfluß auf die Ergebnisse der Untersuchungen.

Ich möchte an dieser Stelle nicht versäumen, für die Überlassung der Arbeit sowie für die vielen Anregungen und die liebenswürdige Unterstützung meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. Max. Knorr zu danken, der mir, trotz eigener sehr starker Inanspruchnahme, jederzeit gerne mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ebenso gilt mein Dank seiner Assistentin Frl. Dr. M. Stenger für die vielen und wertvollen Anregungen und Hinweise.

Hans-Christian Paul.

Literaturverzeichnis.

Bruns: Vom Wasser, Bd. IV, Berlin 1930.

Klut: Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle. Berlin 1931.

Gärtner: Die Hygiene des Wassers. Braunschweig 1915.

Ohlmüller-Spitta: Die Untersuchung und Beurteilung des Wassers und Abwassers. Berlin 1919.

Huß: Behandlung von Wasserproben vor der bakteriologischen Untersuchung. Hemi och Bergvetenskap 1920, Heft 11.

Bayrisches Staatsministerium des Innern: Über die Arbeitsordnung bei der bakteriologischen Untersuchungsanstalt. Bekanntmachung vom 21. 4. 14.

Lebenslauf.

Am 23. März 1914 wurde ich, Sohn des Marineoberstabsarztes Dr. med. Christian Paul in Malente geboren. Nach 9jährigem Besuch des Realgymnasiums in Nürnberg bestand ich dort Ostern 1933 die Reifeprüfung. Die ersten 4 Studiensemester verbrachte ich in Erlangen, das 5. Semester in Bonn. Vom Oktober 1935 bis Ostern 1936 leistete ich als Freiwilliger 1 Jahr Wehrdienst und wurde dann als Sanitätsoffiziersanwärter übernommen und zum Weiterstudium nach Berlin kommandiert. Hier bestand ich im März 1937 die ärztliche Vorprüfung. Die nächsten 3 Studiensemester verbrachte ich in Würzburg; von hier aus wurde ich für die letzten beiden Semester und zur Ablegung des Examens wieder nach Berlin zurückkommandiert.

Berlin, den 8. November 1938.

Hans-Christian Paul.

Erklärung.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich außer dem angegebenen Schrifttum keine anderen Hilfsmittel unerlaubterweise benützt habe.

Berlin, den 8. November 1938.

Hans-Christian Paul.